Aus dem hygienischen Institut zu Rostock.

# Über atypisches Wachstum von Kolonien des Typhusbacillus auf Nährgelatine.

## Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshülfe

der

hohen medicinischen Fakultät der Universität Rostock.

Vorgelegt von

**Hans Henning**

approb. Arzt.

**Berlin.**

Buchdruckerei Gebrüder Kiesau.

(1897.)

ACAD.
LUGD. BAT.
BIBL.

Seinen lieben Eltern und Brüdern

in Dankbarkeit gewidmet.

Seit der Entdeckung des Erregers des Abdominaltyphus durch Eberth[1]) und namentlich seit der Reinzüchtung desselben durch Gaffky[2]) ist eine grosse Reihe von Forschern bemüht gewesen die Biologie dieses Mikroorganismus und vor allem die ihn von andern ähnlichen Bakterien unterscheidenden Merkmale zu studieren, um so den Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser, Boden und in Dejektionen mit Sicherheit liefern zu können.

Mit welchen Schwierigkeiten hierbei zu kämpfen ist, geht wohl am besten aus der Thatsache hervor, dass es bisher nicht gelungen ist, ein Charakteristikum des Typhuserregers aufzustellen, welches allein genügt, ihn im Einzelfalle mit Sicherheit erkennen zu lassen.

Die ausserordentliche Erleichterung, welche man bei der Identifizierung vieler Bakterien darin findet, dass dieselben im Kolonieverbande ganz bestimmte, nur der betreffenden Art zukommende Merkmale zeigen, bietet leider der Typhusbacillus nicht; es zeigen vielmehr die tiefer gelegenen Kolonieen auf Nährgelatine — die andern festen Nährböden kommen hierbei, mit Ausnahme der Kartoffel, fast garnicht in Betracht — durchaus nichts charakteristisches gegenüber vieler andern Arten, und bei den oberflächlichen ist man der Gefahr einer Verwechslung, besonders mit denjenigen des bacterium coli

[1]) Eberth: Virchows Archiv Bd. 81.
[2]) Gaffky: Mitteilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamt Bd. II. 1889.

und einigen Wasserbakterien, ausserordentlich häufig ausgesetzt. Sagen doch deshalb[1]) Germano und Manrea: „Aus der Gesamtheit unserer Untersuchungen ergiebt sich, dafs man aus ihnen keine unterscheidenden Charaktere zwischen den Gelatinekulturen des Typhusbacillus und denen der typhusähnlichen Bacillen ableiten kann". Bei all diesen Untersuchungen hat man angenommen, dass die Typhusbacillen bei dem Wachstum auf Fleischwasserpeptongelatine immer nur ganz bestimmte Kolonieformen bilden, eben die längst bekannten runden und ovalen (anisodiametrischen) glattrandigen, tiefliegenden Scheiben und die farblosen, flachen, buchtig geränderten Beläge auf der Oberfläche des Nährbodens.

Dass nun auch noch das Aussehen der Kolonieen von Typhusbacillen ein und derselben Stammkultur auf Nährgelatine variieren könnte, ist früher nicht angenommen worden; im Gegenteil hielt man sich für berechtigt, Kolonieen, welche dem oben beschriebenen Aussehen nicht in allen Punkten entsprechen, für diejenigen anderer Bakterien, nicht aber für solche des Typhusbacillus anzusehen.

Der erste, welcher Differenzen in dem Bilde von Kolonieen eines Bacillus, welcher sonst völlig dem Typhuserreger glich, verzeichnet, ist Babes[2]). Er hat aus den Mesenterialdrüsen einer 30jährigen Frau, bei der die klinische wie auch die pathologisch-anatomische Diagnose Typhus ergab, Bacillen gezüchtet, welche zwar alle Merkmale des Typhuserregers boten, aber auf Gelatineplatten „rundliche, kleine, bräunlich durchschimmernde, fein granulierte und gezeichnete Kolonieen" bildeten; „manchmal zackige Fortsätze, aus feinen Fäden bestehend, aus-

[1]) Germano und Manrea: „Vergleichende Untersuchungen über den Typhusbacillus und ähnliche Bakterien". Zieglers Beiträge zur pathol. Anat. XII. 1893.

[2]) Babes: „Ueber Variabilitäten und Varietäten des Typhusbacillus". Zeitschrift für Hygiene. XI. 1890.

sendend". Das sonstige Aussehen und Verhalten des so wachsenden Bakterietums schildert er folgendermassen:

„Ovale kurze Stäbchen, oft mit grösseren Bläschen oder stärker gefärbten terminalen Verdickungen. Endständige Geisseln, schwer darstellbar, manchmal aber auch ohne Beize wahrnehmbar; energisch beweglich, mässig gefärbt — nicht nach Gram —, Anordnung parallel distanziert, kaum Säurereaktion gebend, viel Präzipitat, in Bouillon diffuse Trübung, ganz wenig weissliches Sediment, kein Indol, keine Gasbildung; Fäulnisgeruch. Oberflächenwachstum in frischen Gelatine-Stichkulturen kaum erkennbar. In der Tiefe grössere bräunliche Kügelchen; nach Holz gute Entwicklung in der Tiefe. Auf mehrere Monate alten Stichkulturen diffuser, glänzender, durchscheinender, bis an den Rand reichender Ueberzug; keine Krystalle, keine Spaltung der Gelatine. Auf frischem Agar-Agar erhabene weissliche, durchscheinende Plaques mit deprimierten Centren und reichlichem weissen Niederschlag. Auf frischer Kartoffel bräunlicher durchsichtiger Ueberzug, auf alten reichlicher als gewöhnlich".

Ein anderer, aus der Milz gezüchteter Bacillus bildet „rundliche, gelbliche, sehr durchscheinende Kolonieen, an der Oberfläche bis 0,4 cm breit; sehr unregelmässige, mit langen welligen Zacken versehene Plaques, sehr durchsichtig mit undeutlicher, welliger Zeichnung, fein punktiert".

In aller neuester Zeit hat Rosenthal ausser bei einigen anderen Bakterien auch bei Typhusbacillen unter besonderen Bedingungen ein „lockeres" Wachstum, eine Fortsatzbildung an den Kolonieen auf Gelatineplatten konstatiert.

Die von Rosenthal[1]) beschriebenen, von der Norm

[1]) Rosenthal: „Beobachtungen über Variabilität der Bakterienverbände und der Kolonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen". Deutsches Archiv für klinische Medizin 1895.

abweichenden Wuchsformen des Typhusbacillus auf Gelatineplatten hatte auch ich beobachtet und die Ursachen für das Auftreten bereits festgestellt, als die Rosenthal'sche Mitteilung im Druck erschien. Ich trage daher kein Bedenken, die Ergebnisse meiner Arbeit jetzt noch der Oeffentlichkeit zu übergeben, zumal sie gleichzeitig eine Bestätigung jener Beobachtung bringen und auch einige neue Thatsachen enthalten, die für unser Wissen von den Wachstumsverhältnissen von Bakterien auf künstlichen Nährböden von Bedeutung sind, namentlich auch deshalb, weil sie zeigen, dass es nicht zulässig ist, aus veränderter Wuchsform einer Kolonie eines Mikroben auf Varietätsbildungen desselben zu schliessen, wie es Babes zu thun geneigt scheint.

Bevor ich auf die Beschreibung dieser absonderlichen Kolonieformen eingehe, bin ich den Nachweis schuldig, dass es sich bei den von mir benutzten Kulturen wirklich um solche von Typhusbacillen handelte.

Verwendet wurden vier Kulturen verschiedenen Ursprungs, die eine stammte aus der Sammlung des hygienischen, die andere aus dem pathologischen Institut der Universität Rostock, die dritte aus dem hygienischen Institut München und die vierte endlich war aus der Milz einer frischen Thyphusleiche von uns selbst gewonnen. — Die drei ersteren Kulturen, sämtlich älteren Datums, zeigten von der vierten ganz jungen, hinsichtlich der uns interessierenden Erscheinungen so wenig abweichendes, dass von vornherein der Einwand, es handele sich um Degenerationserscheinungen, hinfällig ist.

Zur Identifizierung als Kulturen des Typhusbacillus wurden die bisher als zuverlässig anerkannten Proben verwendet, nämlich:

1) Prüfung der Beweglichkeit,
2) „ des Tinktionsvermögens,
3) „ der Indolreaktion,
4) „ der Säurebildung,

5) Prüfung des Verhaltens in Formalinbouillon,
6) „ der Stichkultur in $^1/_1$‰ indigschwefelsaures Natron enthaltendem Agar,
7) „ Wachstum auf Kartoffeln,
8) Wachstum in der Stichkultur v. Traubenzuckeragar,
9) „ in Milch,
10) „ in Bouillon.

Von der Prüfung auf die Pathogenität wurde einmal aus äusseren Gründen, andererseits auch derwegen abgesehen, weil die dem Typhuserreger ähnlichen Bacillen, wie besonders aus den Arbeiten von Babes, Germano und Manrea hervorgeht, ebenfalls für Versuchstiere meist pathogen sind und weil auch die mit Typhuskulturen angestellten Impfversuche, z. B. die von Beumer[1]) und Peiper, Fränkel-Simmonds[2]), Sirotinin[3]), Wolfowitz[4]), Brieger[5]), v. Fodor[6]), Birch-Hirschfeld[7]), Klebs[8]), A. Fränkel[9]), W. Wissokowitsch[10]) etc. keine einheitlichen Resultate ergeben haben. (Besonders lehrreich für die Frage der Pathogenität ist auch die Arbeit von Seitz[11]).

---

[1]) Beumer und Peiper: „Bakteriologische Studien über die ätiologische Bedeutung des Typhusbacillus. Zeitschr. f. Hygiene I u. II.

[2]) F. Fränkel und Simmonds: „Die ätiologische Bedeutung der Typhusbacillen". Hamburg und Leipzig 1886.

[3]) W. Sirotinin: „Die Uebertragung der Typhusbacillen auf Versuchstiere".

[4]) Wolfowitz: „Ueber Injektionsversuche mit Typhusbacillen". Beiträge zur patholog. Anatomie und Physiologie von Ziegler und Nauwerk IIa.

[5]) Brieger: „Untersuchungen über Ptomaine". Berlin 1885.

[6]) v. Fodor: „Weitere Versuche mit Injektion von Bakterien in die Venen". Deutsche med. Wochenschrift 1888.

[7]) Birch-Hirschfeld: Allgemeine Zeitschrift für Epidemiologie Heft I.

[8]) Klebs: Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie Bd XVII.

[9]) A. Fränkel: „Zur Lehre von den pathogenen Eigenschaften des Typhusbacillus".

[10]) W. Wyssokowitsch: „Ueber die Schicksale der ins Blut inicierten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter". Zeitschrift für Hygiene I, 1886.

[11]) Seitz: „Zusammenfassender historischer Bericht über die Aetrologie des Abdaminaltyphus". Centralbl. f. Bakteriologie Ib, 1887.

In folgender Tabelle lasse ich nunmehr die Resultate der angestellten Versuche folgen:

| Art der Probe | Kultur I aus dem hyg. Institut | Kultur II aus dem path. Institut | Kultur III aus München | Kultur IV aus der Milz einer fr. Typhus-Leiche |
|---|---|---|---|---|
| Beweglichkeit | Teils wackelnde, teils pendelnde Bewegung | lebhafte Bewegung | beweglich | sehr lebhaft beweglich |
| Färbung | schnelle und intensive Färbung mit Gentianaviolett; Entfärbung d. Gramsche Methode | wie bei I | wie bei I | wie bei I |
| Indolreaktion | negativ | negativ | negativ | negativ |
| Formalinbouillon (8 Tag. beobachtet) | keine Trübung | keine Trübung | keine Trübung | keine Trübung |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Reduktionsprobe | nach 7 Tagen ist die tief dunkelblaue Farbe bis zur Hälfte der Agarsäule in eine mehr hellblaue übergegangen | nach einer Woche hat die untere Hälfte des Agar eine grünlich hellblaue Farbe angenomm.; die obere ist dunkelblau. | nur am Boden des Glases eine schwache Verfärbg. ins dunkelgrüne; sonst keine Veränderung. | obere Hälfte indigoblau, untere schwach grünblau |
| Kartoffelkultur | unsichtbares Wachstum | wie bei I | wie bei I | wie bei I |
| Stichkultur in Traubenzuckeragar 1 Woche beobacht. | keine Spaltung des Agar durch Gasbildung | kein Gas | keine Gasentwicklung | unverändert |
| Milchkultur 1 Woche beobachtet. | keine Gerinnung, Aussehen unverändert | wie bei I | wie bei I | wie bei I |
| Bouillonkultur 1 Woche beobachtet | Trübung am Tage nach der Infektion, kein Sediment, Geruch aromatisch | wie bei I | Trübung n. 14 Stunden | wie I; Geruch deutlich mandelartig |

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor, dass die Beweglichkeit im hängenden Tropfen bei allen Kulturen vorhanden war; ein nennenswerter Unterschied in der Lebhaftigkeit der Eigenbewegungen wurde nicht bemerkt. Das Resultat der andern Proben war ebenfalls positiv. — Bei der Indolreaktion wurden zur Kontrolle noch Versuche mit typhusbacillenähnlichen Wasserbakterien und dem bact. coli vorgenommen; die Indolreaktion trat hierbei regelmässig ein. — Die Säurebildung fehlte bei unseren vier Kulturen ebenfalls, denn sonst wäre die Milch geronnen; die Lakmusreaktion nach Petruschky[1]) erschien demnach überflüssig.

Betreffs der Kultur in Formalinbouillon — zu 7 cbm neutraler Bouillon wurde 0,1 cbm einer einprozentigen Formalinlösung gegeben — ist noch zu erwähnen, dass auch bei bact. coli keine Trübung der Bouillon eintrat, während Schild[2]) eine solche bei bact. coli im Gegensatz zum Typhusbacillus beobachtet hat. Die Reduktionsprobe zeigt kleine Unterschiede in Bezug auf die Intensität der Reduktion; dieselbe war aber bei keiner der vier Kulturen so energisch, dass die ursprüngliche Agarfarbe wieder eingetreten wäre; in dem mit bact. coli beschickten Glase war dies schon nach einem halben Tage der Fall.

Besonderen Wert glaube ich auf den positiven Ausfall der Stichkultur in Traubenzuckeragar legen zu müssen; von ihr heisst es bei Germano und Maurea: „Ein absolut sicheres Mittel, um den Typhusbacillus von den typhusähnlichen zu unterscheiden, giebts nach unseren Erfahrungen — die an 88 Kulturen von typhusähnlichen Bacillen und 12 Kulturen von Typhusbacillen verschiedener Herkunft gesammelt und oft wiederholt sind — das Eintreten oder das Ausbleiben der Gasentwicklung in

[1]) Petruschky: „Die Anwendung der Säurereaktion zur Differenzierung des Typhusbacillus von ähnlichen Bakterienarten". Centralblatt, VI, 1889.

[2]) Schild: „Formalin zur Diagnose der Typhusbacillen". Centralblatt, XIV, 1893.

Stichkulturen in Agar mit 2% Traubenzucker. Dies Verfahren ist um so schätzenswerter, als es in 24 Stunden zur Diagnose führt".

Von der Züchtung auf Jequiritydekokt[1]), sowie von dem Uffelmann'schen[2]) und Noeggerat'schen[3]) Verfahren zur Identifizierung glaubte ich absehen zu können, da diese Methoden der Prüfung doch sehr unsicher sind.

Es dürfte auch aus den oben gegebenen Resultaten zur Genüge hervorgehen, dass es sich in allen 4 Fällen um Kulturen von Typhusbacillen handelte.

Hinsichtlich ihrer morphologischen Eigenschaften stimmten natürlich auch alle 4 Arten überein.

Ich komme zu der Erscheinung des atypischen Wachstums auf Nährgelatine zurück. — Ich beobachtete dieselbe zuerst, als zufällig eine ziemlich stark alkalische Nährgelatine zur Herstellung von Platten verwendet wurde. — Während auf der gewöhnlichen schwach alkalischen Gelatine durchaus nichts von dem bekannten Bilde der Typhuskolonieen Abweichendes zu Tage trat, zeigte sich in allen Fällen bei Verwendung ziemlich stark alkalischer Gelatine ein durchaus eigentümliches Verhalten. Wie auch sonst waren zahlreiche oberflächliche und tiefe Kolonieen, vorhanden; erstere durchschnittlich von amöbenähnlicher Gestalt, manchmal länglich, hufeisenartig gekrümmt, dann wieder an die Form von Hirnwindungen erinnernd, lange Fortsätze wie Polypenarme aussendend und häufig die von Germano und Maurea betonte blattartige Zeichnung zeigend.

Die tiefer gelegenen Kolonieen liessen keine derartige Variation in der äusseren Gestaltung erkennen, sie waren alle mehr rundlich oder elliptisch, hatten aber sämtlich ganz feine pinsel- oder büschelförmige Ausläufer,

---

[1]) Kaufmann: „Ueber einen neuen Nährboden von Bakterien". Centralblatt, 1891.

[2]) Uffelmann: „Ueber den Nachweis von Typhusbacillen". Berl. Klin. Wochenschrift, 1891.

[3]) Noeggerat: „Fortschritte der Medicin". 1888.

sodass sie mit einer Wurzel mit Wurzelfasern verglichen werden konnten, andere wieder ähneln — um einen Vergleich aus der Anatomie zu wählen — durchaus einem Knochenkörperchen; auch lassen sich an langfüssige Insekten, wie Spinnen und dergl. erinnernde Formen herausfinden. In der Abbildung IV der beigegebenen Tafel sind dieselben nachgebildet, während Nr. V die oberflächlichen amöbenähnlichen Kolonieen wiedergeben soll.

Es lag nahe sich zuerst durch ein Klatschapparat über den Charakter dieser eigentümlichen Ausläufer zu orientieren. Hierbei fand sich nun eine auffallende Menge kürzerer und längerer Zellfäden, um die sich die einzelnen Bacillen gruppierten. Zeichnung I veranschaulicht dies.

Im hängenden Tropfen wurden dieselben Fäden sichtbar und zwar fanden sich die kürzeren, die aus ca. 10 Einzelorganismen bestanden, in lebhaft schlangenartiger, die ganz langen — häufig schleifenartig umgebogenen — in pendelnder Bewegung.

Meine erste Annahme von den Ursachen dieses abnormen Wachstums der Typhusbacillen auf der, wie schon erwähnt, stark alkalischen Gelatine, war die eines Einflusses der Alkalessenz. Denn da die Erscheinung auf einer Nährgelatine, die nach der ursprünglichen Vorschrift alkalisch gemacht — sonst aber unserer stark alkalischen völlig gleich war — niemals auftrat, war diese Annahme mindestens naheliegend, sie musste aber an Wahrscheinlichkeit gewinnen, sobald dieselben Erscheinungen mit steigender Alkalessenz an Intensität zunähmen.

Ich stellte daher eine völlig neutrale Gelatine her, aus der dann stärkere alkalische leicht anzufertigen war. Die verschieden stark alkalischen Gelatinen bezeichnete ich mit den Ziffern 1—5; zu Nr. 1 hatte ich 1% einer Normallösung von kohlensaurem Natron zugesetzt und so fort bis zu 5% bei Nr. 5. Zur Aussaat wurde

jeweils eine grosse, recht charakteristische Kolonie des auf neutraler Gelatine frisch gezüchteten Typhusbacillus genommen, hiervon auf neutrale Bouillon übertragen, diese 24 Stunden im Brütschrank gehalten und dann mit derselben sowohl die neutrale wie auch die 5 Arten alkalische Gelatine beschickt.

Auf den 24 Stunden alten Platten ergab sich folgender Befund:

Neutrale Gelatine:
Die meisten Kolonieen völlig typisch, nur einige wenige oberflächliche erscheinen etwas unregelmässig; polypen- und haarähnliche Fortsätze nicht vorhanden.

Alkalische Gelatine Nr I:
Dasselbe Bild wie auf der neutralen Gelatine.

Alkalische Gelatine Nr. II:
Desgleichen.

Alkalische Gelatine Nr. III:
Die unregelmässigen oberflächlichen Formen haben bedeutend zugenommen.

Alkalische Gelatine Nr. IV:
Sowohl oberflächliche wie tieferliegende Kolonieen haben Fortsätze.

Alkalische Gelatine Nr. V:
Die Kolonieen sind noch sehr klein, doch kann man schon überall Ausläufer erkennen.

Die Platten wurden in allen Fällen bei 22—24° C. gehalten.

Mehrfache Kontrollversuche mit den älteren Typhuskulturen — es war bisher nur der selbstgezüchtete Bacillus benutzt — ergaben dasselbe Resultat.

Meine Annahme erwies sich hiernach scheinbar als richtig; wenigstens wurde durch diese Versuche der Nachweis erbracht, dafs bei stark alkalischer Gelatine bei 22—24° C. eine Fortsatzbildung eintrat. Ein Zu-

sammenhang zwischen dem Alkalizusatz und dem Auftreten von Fasern musste jedenfalls bestehen.

Dass überhaupt die chemische Beschaffenheit des Nährbodens und speziell die Alkalessenz einen Einfluss auf das Bakterienwachstum ausübt, ist ja bereits seit längerem bekannt; hatten doch schon Eisenberg[1]), Fränkel-Simmonds[2]), Ali Cohen[3]) auf alkalischen Kartoffeln ein anderes Wachstum konstatieren können, als auf solchen von saurer Reaktion; Schiller[4]) brachte in Erfahrung, dass die auf alkalischen Kartoffeln gewachsenen Typhusbacillen schmaler und kürzer als sonst seien.

Kitasato[5]) konnte auf Grund seiner Versuche eine Herabsetzung des Wachstums von Typhusbakterien durch die Einwirkung von Alkalien konstatieren. Er fand bei Zusatz von 2% Natriumkarbonat zur Nährgelatine Wachtum, bei 2,1—2 2% Wachstumshemmung; bei Zusatz von 2,2% zu neutraler Bouillonkultur wurden nach Ueberimpfung von dieser Kultur auf Platten noch einige Typhuskolonie beobachtet, nach Zusatz von 2,32 bis 2,47% nicht mehr.

Besondere Formen der Bakterienverbände hat Kitasato nicht beschrieben.

Obgleich in unsern Fällen von irgend welchen chemischen Einflüssen eigentlich nur die Alkalessenz in Betracht kommen konnte, führe ich doch der Vollständigkeit halber die Litteratur über die hinsichtlich des Bakterienwachstums mit Säure gemachten Erfahrungen kurz an.

Unter andern haben besonders Chautemesse-

---

[1]) Eisenberg: „Bakteriologische Diagnostik".

[2]) Fränkel-Simmonds: cf. oben.

[3]) Ali Cohen: „Der Typhusbacillus". Baumgartens Jahresbericht 1887.

„De Typhus-Bacil". Enn experimental enkrit. onderzock. 1888.

[4]) Schiller: „Beiträge zum Wachstum des Typhusbacillus auf Kartoffeln". Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.

[5]) Kitasato: „Ueber das Verhalten des Typhus- und Cholerabacillus zu säure- und alkalihaltigen Nährböden". Zeitschrift für Hygiene, III, 1888.

Wiedal[1]), Bartoschewitsch[2]), Vincent[3]) Parietti[4]), Katz[5]), Schlüter[6]), Hehn[7]) und Köhler[8]) die Widerstandsfähigkeit der Typhusbacillen gegen hohe Acidität des Nährbodens geprüft und sind zu dem Resultat gekommen, dass dieselben im allgemeinen grösser als die gegen Alkalien ist.

Von irgendwelcher Beeinflussung der Kolonieform ist nirgend die Rede.

Die Deutung der atypischen Wuchsform der Kolonieen des Typhusbacillus auf stark alkalischer Gelatine mittels der Annahme eines besonderen Einflusses der Alkalessenz erschien mir aber unmöglich, weil ich gleichzeitig beobachtet hatte, dass auch auf sauren Bierwürze-Gelatineplatten die beschriebene Erscheinung der Fortsatzbildung auftrat; andrerseits war sie aber auch ein Fingerzeig, die Ursache der Bildung von Ausläufern in der Verminderung der Widerstände, welche der Nährboden dem Wachstum der Typhuskolonie entgegensetzt, zu suchen, denn die Würzegelatine hatte eine geringere Konsistenz als die gewöhnliche Nährgelatine. — Schien es doch auch rein theoretisch sehr wohl denkbar, dass bei verringerten Widerständen sich einzelne, besonders kräftige Bacillenindividuen schneller vermehren und weiter auswachsen

---

[1]) Chantemesse und E. Wiedel: „Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoide". 1887.

[2]) Bartoschewitsch: „Ueber die Auffindung von Abdominaltyphusbacillen im Wasser" Centralblatt, 1889.

[3]) Vincent: „Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau". Compt. rend. hebdom. de sriance et de la biologie, 1890, Nr. V.

[4]) „Parietti: „Metodo di ricirca del bacillo del ifo nelle aque potabili". Rivisto d'igiene e sanita publica, 1890.

[5]) Katz: „Final Report of the Royal commission to report upon the sanitary condition of Melbourne".

[6]) Schlüter: „Das Wachstum der Bakterien auf sauren Nährböden". Rostock 1892, Diss. inaug.

[7]) Hehn: „Mitteilungen über das Wachstum von Bakterien auf sauren Nährböden". Leipzig 1893, Diss. inaug.

[8]) Köhler: „Ueber das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen Agentien etc". Zeitschrift für Hygiene. Band XVII.

als es sonst der Fall ist; findet man doch aus demselben Grunde die oberflächlichen Kolonieen, deren Seitenwachstum gar keine Widerstände entgegenstehen, immer grösser und besser entwickelt als die tiefer gelegenen; warum sollten nun nicht bei einer ähnlichen Verringerung der Widerstände im Nährmedium selbst gleichartige Erscheinungen auftreten? Wollte man nach dieser Richtung hin Versuche anstellen, so war es in erster Linie nötig, Nährgelatine von verschiedener Konzentration — bezüglich des Gelatinegehalts, der ja die dichtere Konsistenz des Nährbodens bedingt — herzustellen. Dies geschah, indem wir zu Nährbouillon 5%, 6% u. s. f. bis zu 9% Gelatine setzten und dann sorgfältigst neutralisierten; die verschiedenen Sorten wurden wieder nummeriert und sonst wie bei der oben angegebenen Versuchsreihe verfahren. es zeigte sich nun:

No. I (5%). Ueberall Fortsätze.
No. II (6%). Desgl.
No. III (7%). Viele Fortsätze, aber nicht so schöne wie bei I und II.
No. IV (8%). Manche Kolonieen unregelmässig, die meisten typisch.
No. V (9%). Nirgends Fortsätze; regelmässige Formen.

Also dieselbe Erscheinung bei stark alkalischer 10-prozentiger Gelatine wie bei neutraler 5prozentiger.

Nun war, wenn wirklich die Konsistenz des Nährbodens die Ursache des atypischen Wachstums der Typhusbacillenkolonieen war, nur noch zu beweisen, dass dieselbe Erscheinung auch auftrat, wenn die Gelatineplatten bei hoher Temperatur gehalten wurden, weil dadurch die Konsistenz der Gelatine verringert wird und dass eine grössere Alkalimenge die Konsistenz der Gelatine herabsetzt.

Zu diesem Zwecke wurden Platten mit 10prozentiger neutraler Gelatine das eine Mal bei 20 °, das andere bei

21 ° C. gehalten und das Wachstum auf beiden 5 Tage lang beobachtet. Ich stelle die Resultate nebeneinander:

Plattenkulturen ab neutr. Bouillon.

| Zahl der Tage | 10 prozentige neutr. Gelatine | |
|---|---|---|
| | bei 20 ° C. | bei 24 ° C. |
| 1. | Kolonieen noch sehr klein. Fortsätze nicht wahrnehmbar; einige oberflächliche Kolonien haben unregelmässige Konturen | Ueppige Entwicklung. Von den oberflächlichen Kolonieen erscheinen einige gezöpft |
| 2. | Einige atypische oberflächliche Kolonieen. In d. Tiefe niemals Ausläufer | Die Kolonieen sind grösser geworden, sonst wie gestern |
| 3. | Kolonieen sind gewachsen, atypische nur ganz vereinzelt. | Status idem |
| 4. | Dasselbe Bild | Auch in der Tiefe gezopfte Formen |
| 5. | Desgleichen | Desgleichen. |

Hiernach scheint mir die Annahme, die wenig konsistente Gelatine lasse die Bildung von amöboiden und gezöpften Kolonieen in Erscheinung treten, noch mehr gerechtfertigt. Auch durch die Resultate des folgenden Versuches, — die ich ebenfalls zusammenstelle — bei dem die Widerstände, welche der Nährboden dem Wachstum der Kolonieen bietet, in besonders hohem Maasse herabgesetzt waren, in dem die wenig konsistente 5 prozentige Gelatine bei 24 ° C. gehalten wurde, wird der Einfluss der Konsistenz der Gelatine auf die Kolonieform sicher bewiesen.

Plattenkulturen ab neutr. Bouillon.

| Zahl der Tage | 5 prozentige neutr. Gelatine | |
|---|---|---|
| | bei 20 ° C. | bei 24 ° C. |
| 1. | Kleine Kolonieen an denen Ausläufer noch nicht gut wahrnehmbar sind | Kolonieen etwas grösser, sämtlich mit Fortsätzen versehen |
| 2. | Viel amöbenähnliche Formen, die tiefergelegenen Kolonieen teilweise gezöpft. | Alle oberflächlichen, wie auch die tiefgelegenen, mit polypen- resp. pinselartigen Ausläufern versehen. |

An den folgenden 3 Tagen zeigt sich keine Aenderung.

Bei der ersten Zusammenstellung musste es auffallen, dass die Platten mit 10 prozentiger Gelatine selbst bei 20 ° C. doch schon Unregelmässigkeiten in der Kolonieform zeigten. Wurde als Stammkultur eine mässig alkalische und nicht, wie im vorliegenden Falle, eine absolut neutrale Bouillon genommen, so blieben auf den Platten, welche mit 10 proz. Gelatine gegossen waren, die unregelmässigen Kolonieformen völlig aus. Da nun zu Kulturversuchen in der Regel alkalische Bouillon verwandt wird und die Nährgelatine auch mässig alkalisch ist, so bleiben eben die Fortsätze weg; eine Erklärung hierfür wird sich später bieten.

Um den Beweis zu geben, dafs die stark alkalische Gelatine ebenfalls durch ihre verminderte Konsistenz, und nicht durch ihren Alkaligehalt, direkt die Bedingungen für das geschilderte von der Norm abweichende Wachstum der Typhusbacillen liefere, stellte ich zunächst einmal den Grad der Konsistenz bei der 10 prozentigen stark alkakalischen und der 5 prozentigen neutralen Gelatine fest. Ein Viscosimeter war leider nicht zur Hand und so glaubte ich denn in der Feststellung des Schmelzpunktes ein brauchbares Verfahren zu besitzen. Das Resultat entsprach vollkommen meinen Erwartungen. Wiederholt angestellte Versuche ergaben als Schmelzpunkt für:

starkalkalische 10 prozentige Gelatine 30,5 ° C.
neutrale 5 prozentige „ 31,0 ° C.;

umgekehrt erstarrte die 5prozentige nach 40 Minuten, während zu dieser Zeit die alkalische erst dickflüssig war. Gleichsam um die Probe auf das Exempel zu machen stellte ich nunmehr eine 5prozentige Gelatine her, bei der ich durch Glycerinzusatz die grosse Lockerheit, wegen des geringen Gelatinegehaltes, wieder auszugleichen suchte.

War die oben gemachte Annahme richtig, so dürfte nunmehr keine Fortsatzbildung eintreten. Mit dem Zusatz von Glycerin verfuhr ich in der Weise, dass ich in aufsteigender Menge 1—5 % hinzugab. Die Temperatur, bei der die Platten gehalten wurden, betrug 24° C. Zur Kontrolle beobachtete ich ausserdem eine unter denselben Bedingungen gehaltene und von demselben Original stammende Kultur auf 5prozent. Gelatine ohne Glycerinzusatz. Bei letzterer erschienen die Ausläufer natürlich schon nach einem Tage, bei ersterer war ein Unterschied zu beachten; es nahm die Fortsatzbildung, entsprechend dem grösseren Glycerinzusatz, ab.

Bei den mit 4 % Glycerin versehenen Kulturen traten nur sehr vereinzelte, bei der, welche 5 % enthält, gar keine Fortsätze mehr auf.

Das Resultat entsprach also vollkommen unseren Erwartungen; es scheint mir der Beweis geliefert, dafs die beschriebene Bildung zopfartiger Fortsätze bei Typhusbacillen-Kolonieen auf Nährgelatine hauptsächlich in der physikalischen Beschaffenheit des Nährmediums ihren Grund hat. Ob nun in irgend einer Weise hierbei auch die Alkalessenz eine Rolle spielt, indem sie beispielsweise die Wachstumsenergie beeinflusse, war nach den bisherigen Versuchen noch nicht eruiert. Dass in der That eine Beeinflussung des Wachstums vorliegt, geht aus der folgenden Zusammenstellung entschieden hervor und zwar müfste man den Einfluſs des Alkalis als wachstumshemmenden bezeichnen; diese ungünstige Beeinflussung nun tritt besonders stark dann in Erscheinung, wenn die Bacillen auf mehreren alkalischen Nährböden hinterein-

ander gezüchtet wurden, wie ja auch ohne weiteres aus den nachstehenden Aufzeichnungen hervorgeht und auch von anderer Seite — s. oben — bethätigt ist.

Stichkulturen ab neutraler Bouillon
bei ca. 22 ° C.

| Zahl der Tage | 10 prozent. neutr. Gelatine | 5 prozent. neutrale Gelatine | stark alkalische 10 prozentige Gel. |
|---|---|---|---|
| 1. | Entwicklung am ganz. Stichkanal; oben stärker als unten | Entwicklung noch reichlicher als auf 10prozentige | Kein Wachstum |
| 2. | Das Wachstum hat zugenommen | Oberflächl. Ausbreitung v. 3 mm Durchmesser | Desgleichen |
| 3. | Am unteren Abschnitt des Stichkanals sind einzelne Granula gut sichtbar | Sehr üpp. Wachstum. Viele Granula | Andeutung von Entwicklung dicht unter der Oberfläche. |

Stichkulturen ab alkal. Bouillon
bei ca. 22 ° C.

| Zahl der Tage | 10 prozent. neutr. Gelatine | 5 prozent. neutrale Gelatine | stark alkalische 10 prozentige Gel. |
|---|---|---|---|
| 1. | Ganz schwache Entwicklung am oberen Ende des Stichkanals | Schwache Entwicklung i. oberen Drittel | Milch wahrnehmbar. |
| 2. | Spärliches Wachstum am ganzen Stichkanal | Reichlicheres Wachstum, besonders am oberen Ende | Desgleichen |
| 3. | Granula erkennbar | Gutes Wachstum | Desgleichen. |

Von ganz besonderem Interesse musste es nun auch sein, auf den stark alkalischen Gelatineplattenkulturen, die Nebenwirkung der Alkalessenz — nämlich die Auflockerung des Nährbodens — vollkommen auszuschliessen und so die direkte Beeinflussung der Kolonieform durch Alkali zu beobachten, oder aber einer geringprozentigen Gelatine — z. B. 5 prozentiger —, auf der doch bei der geeigneten Temperatur die Fortsatzbildung regelmässig eintritt, grosse Mengen Alkali zuzusetzen und dann mit einer anderen Kultur auf neutraler 5 prozentiger Gelatine zu vergleichen. Derartige Versuche scheitern aber immer an der durch Alkalizusatz hervorgerufenen allzu geringen Konsistenz der Gelatine; dieselbe erstarrt überhaupt nicht. Auch durch Glycerin und Alkali, wobei also das Glycerin die durch Alkali verminderte Konsistenz wieder vergrössern sollte, konnten wir zu keinem brauchbaren Resultat kommen. Am leichtesten wird die Lösung der Aufgabe, wenn wir nachgewiesen haben, dass die Bildung von Ausläufern ein besonders energisches Wachstum bedeutet; ist das der Fall, so müssen wir annehmen, dass Alkalien die Entstehung von Fortsätzen durchaus nicht begünstigen, da sie ja überhaupt das Wachstum hemmen. Es würde dann bei den stark alkalischen Nährgelatinen die Konsistenzverminderung so gross sein, dass sie die nachteilige Wirkung der Alkalessenz überwindet und so zum Wachstum der Ausläufer kommt. Wie nun aus vielfach angefertigten Klatschpräparaten zu ersehen war, beruhen die Fortsätze — cf. Zeichnung I — auf einer Bildung von Scheinfäden der Typhusbacillen, und zwar sowohl bei den oberflächlichen polypenähnlichen, wie auch bei den tiefer gelegenen Kolonieen. Dieselbe Fadenbildung trifft man nun auch besonders häufig in flüssigen Nährmedien an, welche besonders günstig für die Vermehrung der Typhusbacillen sind, wie z. B. Kartoffelsaft. In dem schlechten Nährsubstrat Wasser, konnten wir eine Fadenbildung nicht konstatieren; es zeigten vielmehr die Bacillen, welche

zwölf Tage in Wasser gezüchtet waren, ein geradezu abgemagertes Aussehen, auch waren sie fast alle isoliert, höchstens reihten sich zwei oder drei Exemplare an einander.

Hiernach kann man das Erscheinen der Ausläufer wohl kaum anders als ein besonders energisches Wachstum deuten, woraus dann wieder folgt, dass Alkali an sich die Bildung von Fortsätzen durchaus nicht fördern kann. Nun erklärt es sich auch, dass auf der stark alkalischen 10 prozentigen Gelatine, die doch — wie oben angegeben — eher schmilzt als neutrale 5 prozentige, trotz dieser Thatsache die Entwicklung der Ausläufer keine so schöne ist, wie auf neutraler 5 prozentiger Gelatine.

Diese Untersuchungen wurden nun noch ganz allgemein nach der Seite hin ausgedehnt, ob immer eine gewisse Veränderung der Wachstumsenergie stattfand, wenn gute oder schlechte Nährböden zur Herstellung der Probekulturen verwendet wurden und von dieser dann auf Gelatine mit verschiedenen Wachstumswiderständen ausgesäet wurden.

Zu diesem Zwecke legte ich Parallelkulturen auf 5 prozentiger Gelatine an, in dem das eine Mal von einem sehr schlechten, das andere Mal von einem sehr guten Nährboden überimpft wurde. Als schlechten Nährboden wälte ich steriles destiliertes Wasser, als guten Kartoffelsaft. Da in demselben bei Brüttemperatur eine ganz besonders reichliche Vermehrung der Bacillen beobachtet war. Ich lasse die Ergebnisse dieser Versuchsreihe nebenstehend folgen:

| Zahl der Tage | voraufgegangener Nährboden: steriles Wasser | |
|---|---|---|
| | neutr. 10 prozent. Gelatine | neutr. 5 prozent. Gelatine |
| 1. | Kolonieen sehr klein, Details nicht wahrnehmbar | Reichl. Wachstum; Fortsätze bereits erkennbar |
| 2. | Schöne Entwicklung typischer Formen | Sehr schöne lange Fortsätze an den tief gelegenen Kolonieen |
| 3. | Noch üppigeres Wachstum | Status idem |
| 4. | Desgleichen | Desgleichen |
| 5. | Desgleichen | Desgleichen. |

| Zahl der Tage | voraufgegangener Nährboden: neutr. Kartoffelsaft | |
|---|---|---|
| | neutr. 10 prozent. Gelatine | neutr. 5 prozent. Gelatine |
| 1. | Typische Kolonieen sehr zahlreich; einige von unregelmässiger Form | Zahlreiche Kolonieen mit Fortsätzen; besonders mit oberflächliche polypenähnliche Formen |
| 2. | Kolonieen gewachsen, sonst keine Aenderung | Desgleichen |
| 3. | Nur hygienische Kolonieen | Status idem |
| 4. | Desgleichen | Status idem. |
| 5. | Desgleichen | Status idem. |

Wenn man beide Tabellen vergleicht, so sagt schon der erste Blick, dass ein besonderer Unterschied bezüglich der Fortsatzbildung nicht besteht. Die Entwicklung der Kolonieen geht allerdings nach vorausgegangenem guten Nährboden schneller vor sich, hinsichtlich der Ausläufer aber sind die Verhältnisse in beiden Fällen dieselben.

Es sei bei dieser Gelegenheit noch erwähnt, dass ich eine Schädigung der Lebensenergie des Typhusbacillus bei diesem schroffen Wechsel der Nährsubstrate, wie sie Metschnikoff allgemein für Bakterien beobachtet hat, nicht bemerken konnte.

Des weiteren glaubte ich von Nebenumständen, welchen man eventuell noch eine Einwirkung auf das Wachstum der Kolonieen zu schreiben könnte, ausser dem voraufgegangenen Nährboden und der Alkalessenz, noch die Temperatur und die Dichtigkeit der Aussaat berücksichtigen zu müssen.

Die Frage, ob höhere oder niedere Wärmegrade im Stande seien das Auftreten der beschriebenen eigentümlichen Kolonieform zu behindern oder zu begünstigen, beantwortet sich nach einem Blick auf die Tabellen von selbst. Die fraglichen Ausläufer treten bei einer Temperatur von 24° und mehr sowohl eher als auch reichlicher auf; es fragte sich nur, ob nicht der durch grössere Wärme gegebene Vorteil in einem noch weniger als 5% Gelatine enthaltenden Nährboden einen Ersatz fände. Um dies zu eruieren legte ich Kulturen auf $2\frac{1}{2}$ und 3 prozentiger Gelatine an und beobachtete dieselbe bei einer Temperatur von 18—20°. Zur Kontrolle dienten Plattenkulturen von 5 prozentiger Gelatine bei 24—26° C. gehalten; hierbei wurde noch besonderes Augenmerk auf das Abmessen einer möglichst gleich grossen Menge der zum Impfen dienenden Bouillonkultur gerichtet. Es ergab sich nun, dass bei der höheren Temperatur auf 5 prozentiger Gelatine immer eine bessere und reichlichere Ausläuferbildung eintrat, als bei niedrigerer auf $2\frac{1}{2}$ und

3prozentiger Gelatine. Die höhere Temperatur ist also dem Auftreten von Fortsätzen entschieden günstig.

Ein anderes Moment, das vielleicht noch in Frage kommen konnte, war die Dichtigkeit der Aussaat. Um dies festzustellen verglich ich einfach Originalplatten mit denen der ersten und zweiten Verdünnung:

| Zahl der Tage | Plattenkulturen bei 24—26° C. auf 5% neutr. Gelatine | | |
|---|---|---|---|
| | Original | 1. Verdünnung | 2. Verdünnung |
| 1. | Kolonieen sehr dicht; Fortsätze hier u. da schwach sichtbar | Schöne Fortsätze oberflächlich u. in der Tiefe | Sehr wenig Kolonieen; dieselben m. Fortsätzen versehen |
| 2. | Die Kolonieen erscheinen noch dichter; sie haben meist eine mehr ovale Form und haben Ausläufer vornehmlich an Polen | Fast alle reichlich mit Fortsätze versehen | Bei den amöbenähnlichen Formen laufen die Fortsätze in langen Fäden aus |
| 3.—5. | Status idem | Status idem | Status idem. |

Obige Zusammenstellung lehrt uns deutlich, dass die Dichtigkeit der Aussaat ohne besonderen Einfluss auf die Fortsatzbildung ist. Wo auf den Originalplatten die einzelnen Kolonieen nur irgend welchen Platz zur Ausbreitung haben, da entsenden sie auch Ausläufer; meist ist ihnen dies aber nur nach einer oder zwei Richtungen möglich, wodurch dann die längliche Gestalt zu stande kommt.

Nachdem nun so festgestellt war, unter welchen Bedingungen die Fortsatzbildung konstant eintritt, schien es von Interesse die nämlichen Versuche mit andern, den Typhusbacillen ähnlichen Bakterien anzustellen, um so eventuell für die bakteriologische Differentialdiagnose einige nicht unwichtige Momente herauszufinden.

Aus den Brunnen mehrerer Ortschaften, deren Wasser auf amtliche Veranlassung einer bakteriologischen Untersuchung behufs Feststellung von Typhuskeimen unterzogen werden sollte, gewannen wir mehrfach Bacillenreinkulturen, welche nach ihrem Aussehen auf gewöhnlichen Gelatineplatten als typhusbacillenähnlich wohl bezeichnet werden konnten, sich aber durch weitere Kulturversuche — es wurden der Reihe nach sämtliche zur Identifizierung des Typhusbacillus gebräuchlichen Methode angewandt — stets als andere Arten herausstellten. Bei diesen Bakterien wäre es nun ganz besonders wertvoll gewesen, sie nach Züchtung auf 5 prozentiger Gelatine von vornherein als nicht für die Differentialdiagnose in Betracht kommend, ausschliessen zu können.

Leider bestätigten sich die nach dieser Richtung hin gehegten Hoffnungen nicht; auch die typhusbacillenähnlichen Wasserbakterien senden in 5 % prozentiger Gelatine Fortsätze aus, und zwar meist in noch höherem Maasse, als es beim Typhuserreger der Fall ist. Zwar ist das Aussehen in der Regel doch noch von dem der Typhusbacillenkolonieen abweichend — besonders bei vergleichender Betrachtung fällt dies auf — aber für Zwecke der Differentialdiagnose unverwertbar.

Von entschieden besserem Erfolg waren die Bemühungen mit dem bacterium coli. Es tritt hier niemals auf 5 prozentiger Gelatine bei ca. 24 ° C. eine Fortsatzbildung ein, die Kolonieen bleiben kreisrund, resp. oval; Figur III zeigt Kolonieen von bacterium coli auf 5 prozentiger Gelatine.

Nunmehr schritt ich dazu, 5 prozentige Gelatine

zugleich mit bact. coli und bacillus typhi abdominalis zu impfen und Platten zu giessen. — Schon nach einem Tage war ein Unterschied in der Kolonieform ganz deutlich erkennbar. Bacterium coli zeigte in den tiefliegenden Kolonieverbänden ganz runde Konturen, nirgends einen Ausläufer oder auch nur Vorsprung, — die Typhusbacillen-Kolonieen dagegen hatten eine längliche Form angenommen und zeigten mehrfache recht lange Ausläufer; aus der Abbildung VI sind die Verhältnisse klar ersichtlich. Die Beschickung der Gelatine mit dem Typhusbacillus hatte ich im vorliegenden Falle absichtlich reichlicher vorgenommen als mit dem Bact. coli; es liess sich am besten eine Beeinträchtigung des ersteren durch letzteres verhüten.

Fassen wir auch einmal kurz die Resultate der Untersuchung zusammen:

1. Der Typhusbacillus zeigt auf einer wenig konsistenten Gelatine nicht das typische Aussehen seiner Kolonieen, sendet vielmehr vom Rande derselben Fortsätze aus, welche bei den oberflächlichen Verbänden ein polypenartiges, bei tiefer gelegenen ein härchen- oder pinselähnliches Aussehen haben; diese Ausläufer bestehen aus Scheinfäden.
2. Auf stark alkalischer 10 prozentiger Gelatine treten dieselben Erscheinungen auf, infolge der durch das Alkali bewirkten Konsistenzverminderung; Alkali an sich wirkt hemmend auf das Wachstum der Typhusbacillen.
3. Die Temperatur, bei welcher die Platten gehalten werden, spielt insofern eine Rolle, als höhere Wärmegrade das Auftreten der atypischen Kolonieformen begünstigen.
4. Der voraufgegangene Nährboden ist für die Fortsatzbildung ohne besonderen Einfluss.
5. Die Dichtigkeit der Aussaat kommt für die Entwicklung der Ausläufer nicht in Betracht.

6. Die Erscheinung der Fortsatzbildung ist als eine ganz besonders energische Lebensäusserung zu betrachten.
7. Differentialdiagnostisch ist das eigenartige Wachstum auf Gelatine mässiger Konsistenz, gegenüber den meisten typhusähnlichen Bakterien nicht verwertbar, wohl aber gegenüber dem Bact. coli.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Ludwig Pfeiffer für die Anregung zu dieser Arbeit und das lebhafte Interesse, welches er derselben entgegengebracht hat, sowie Herrn Professor Dr. Albert Thierfelder für gütige Ueberlassung von Material auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

H. Henning

Arzt.

# Litteratur.


1. Eberth: Virchows Archiv Bd. 81.
2. Gaffky: Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt Bd. II 1884.
3. C. Flügge: Mikroorganismen.
4. Fränkel-Simmonds: „Die ätiologische Bedeutung des Typhusbacillus". Hamburg 1886.
   Derselbe: „Weitere Untersuchungen über die Aetiologie des Abdominaltyphus". Zeitschrift für Hygiene Bd. II 1887.
5. Ali-Cohen: „Der Typhusbacillus". Baumgartens Jahresbericht 1887.
   Derselbe: „De Typhus-Bacil". En experimental en krit. onderzoek, 1888.
6. Eisenberg: Bakteriologische Diagnostik.
7. Kitasato: „Die negative Indolreaktion des Typhusbacillus i. Gegensatz zu andern ähnlichen Bacillen". Zeitschrift für Hygiene Bd. VII.
8. Smith: „Das Gährungskölbchen in der Bakteriologie". Centralblatt VII.
9. Petruschky: „Die Anwendung der Säurereaktion zur Differenzierung der Typhusbacillen von ähnlichen Bakterienarten". Centralblatt VI 1889.
10. Noeggerath: Fortschritte der Medizin, 1888.
11. Gasser: „Cultures du bacille typhique sur milieux nutritifs colorés". Archiv de méd. experim. et d'anatomic pathol. 1890 Nr. VI.
12. Uffelmann: „Ueber den Nachweis des Typhusbacillus". Klin. Wochenschrift, Berlin 1891.
13. Kaufmann: „Ueber einen neuen Nährboden für Bacillen". Centralblatt 1891.
14. Schild: „Formalin zur Diagnose der Typhusbacillen". Centralblatt XIV, 1893.

15. Sirotinin: „Die Uebertragung von Typhusbacillen auf Versuchstiere“. Zeitschrift f. Hygiene I, 1886.
16. Bäumer und Peiper: „Bakteriologische Studien über die ätiologische Bedeutung des Typhusbacillus“. Zeitschrift für Hygiene I und II.
17. A. Fränkel: „Zur Lehre von den pathogenen Eigenschaften des Typhusbacillus“.
18. Wolfowitz: „Ueber Injektionsversuche mit Typhusbacillen“. Beiträge zur pathol. Anatomie und Physiologie von Ziegler und Nauwerk IIa.
19. Brieger: „Untersuchungen über Ptomaïne“. Berlin 1885.
20. v. Fodor: „Neuere Versuche mit Injektion von Bakterien in die Venen“. Deutsche med. Wochenschrift 1888.
21. Birch-Hirschfeld: Allgemeine Zeitschrift für Epidemiologie, Heft I.
22. Klebs: Archiv für experimentelle Pharmakologie und Pathologie, XIII.
23. Wyssokowitsch: „Ueber die Schicksale der ins Blut injicierten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter“. Zeitschrift für Hygiene, 1, 1886.
24. Seitz: „Zusammenfassender historischer Bericht über die Aetiologie des Abdominaltyphus“. Centralblatt für Bakteriologie Ib 1887.
25. Germano und Manrea: „Vergleichende Untersuchungen über den Typhusbacillus und ähnliche Bakterien“. Zieglers Beiträge etc., XII, 1893.
Derselbe: „Einflüsse der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Nährbodens auf den Typhusbacillus.“
26. Fränkel und Simmonds: cf. oben.
27. Ali Cohen: desgleichen.
28. Schiller: „Beitrag zum Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln“. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, VIII.

29. Kitasato: „Ueber das Verhalten des Typhus- und Cholerabacillus zu säure- und alkalhaltigen Nährböden". Zeitschrift für Hygiene, III, 1888.
30. Chautemesse und Widal: „Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoide". 1887.
31. Bartoschewitsch: „Ueber die Methode der Auffindung von Abdominaltyphusbacillen im Wasser". Centralblatt 1889.
32. Vincent: „Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau". Compt. rend. etc. 1890, V.
33. Parietti: „Metodo di ricerca del bacillo del tifo nelle aque potabili". Rivista d'igian e sanitä publica, 1890.
34. Katz: Final recort of the Royal Commission to report upon the sanitary condition of Melbourne.
35. Schlüter: „Das Wachstum der Bakterien auf sauren Nährböden". Rostock 1892. Diss. inaug.
36. Hehn: „Mitteilungen über das Wachstum von Bakterien auf sauren Nährböden". Leipzig 1892. Diss. inaug.
37. Köhler: „Ueber das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen Agentien, insbesondere Säure, Alkalien und Anilinfarbstoffe". Zeitschrift für Hygiene Bd. XIII.
38. Rosenthal: „Beobachtungen über Variabilität der Bakterienverbände und der Kolonieformen unter verschiedenen physikalischen Bedingungen". Deutsches Archiv für klin. Medizin, 1895. Varietäten des Typhusbacillus.
39. Babes: „Ueber Variabilitäten und Varietäten des Typhusbacillus". Zeitschrift für Hygiene XI. 1890.

## Erläuterung nebenstehender Tafel.

Figur I: Klatschpräparat einer Typhusbacillenkolonie auf 5 prozentiger Gelatine: Bildung von Zellfäden mit darum gruppierten Einzelzellen.

Fig. II: Klatschpräparat einer Typhusbacillenkolonie auf 10 prozentiger neutraler Gelatine.

Fig. III: Bacterium coli auf 5 prozentiger Gelatine.

Fig. IV: Tiefgelegene Kolonieen von bac. typhi abdom. auf 5 prozentiger Gelatine.

Fig. V: Oberflächliche Kolonieen von Typhusbacillen auf 5 prozentiger Gelatine.

Fig. VI: Kolonieen von Bact. coli und bacillus typhi auf 5 prozentiger Gelatine; die kleinen, der Form von Insekten ähnelnden, sind Typhusbacillenkolonieen.

I

II

III

IV

V

VI